

# **Patologiska förändringar och säsongsmässiga variationer i testiklar från svenska brunbjörnar (*Ursus arctos*)**

**Jenni Lennse**

**Handledare: Elisabet Ekman  
Inst. BVF, Avd. för patologi, farmakologi och toxikologi  
Biträdande handledare: Arne Söderberg  
SVA, Enheten för patologi och viltsjukdomar**

## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Innehållsförteckning.....	1
Sammanfattning .....	3
Summary .....	4
Inledning .....	5
Brunbjörnen i Sverige .....	5
Brunbjörnens biologi.....	5
Testikelmorfologi och fysiologi.....	6
Reproduktionsfysiologi och säsongsvariation hos björnhanar.....	7
Miljögifter .....	10
Miljögifternas inverkan på hälsa och fortplantning .....	11
Missbildningar i hanliga könsorgan .....	13
Syfte med studien .....	13
Material och metoder .....	14
Björnarna .....	14
Makroskopisk undersökning av testiklar och bitestiklar.....	14
Histologisk undersökning av testiklar och bitestiklar .....	15
Statistiska beräkningar .....	15
Resultat.....	16
Vikter och längder .....	16
Testiklar och bitestiklar .....	18
Diskussion .....	24
Litteraturförteckning .....	26

## SAMMANFATTNING

Fungerande fortplantningsorgan är nödvändiga för en arts överlevnad. Reproduktionssystemet är känsligt för påverkan av kemiska substanser av antropogent ursprung. Vi människor släpper genom vårt levnadssätt ut mängder av kemiska ämnen i miljön som visat sig ha negativa effekter på reproduktionen hos olika klasser av vertebrater. Hos t.ex isbjörn (*Ursus maritimus*) har man kopplat en försämrad fortplantningsförmåga på grund av sänkta testosteronnivåer och en minskad testikelstorlek till förekomst av organohalogen substanser, bl. a. PCBer. Även om den svenska brunbjörnen (*Ursus arctos*) inte är ett lika utpräglat rovdjur som sin nära släkting isbjörnen exponeras även brunbjörnen för miljögifter. Hos brunbjörnen som har en kort parningssäsong under våren förekommer naturliga fluktuationer i såväl testosteronnivåer som testikelstorlek och testikelmorfologi under året. I denna studie har testiklar från 51 svenska brunbjörnar som skjutits under jakten 2007 undersökt makroskopiskt. Av dessa har sedan testiklar och bitestiklar från tolv björnar undersökts mikroskopiskt med avseende på patologiska förändringar och säsongsmässiga morfologiska variationer. Som jämförelse har testiklar från nio individer som dött under våren undersökts makro- och mikroskopiskt.

Patologiska förändringar noterades i testiklarna och/eller bitestiklarna hos två björnar. Det ena var en bilateralt kryptorchid björn med hypoplasi av båda testiklarna samt segmentell aplasi av en bitestikel. Hos en annan björn hittades segmentell aplasi av båda bitestiklarna. Vidare sågs cystor vid sidan om sädesledaren hos tre björnar.

En säsongsmässig variation i testikelmorfologi observerades. På hösten dominerades testiklarna av bindväv jämfört med under björnens parningssäsong på senvåren då aktiv spermatogenes dominerade. Även en större testikelstorlek noterades hos björnar som dött på våren. På hösten då björnen är sexuellt inaktiv förekommer ingen eller en låg grad av spermatogenes.

## SUMMARY

Functioning reproductive organs are essential for the survival of a species. The reproductive system is very sensitive to exposure of chemical substances of anthropogenic origin. Humans release great amounts of chemical substances to the environment by our means of life and these substances have been proved to have a negative effect on the reproductive ability of different vertebral classes. In the polar bear (*Ursus maritimus*) a declined reproductive ability as an effect of decreased testosterone levels and decreased testicular size has been connected to the presence of high levels of organohalogenic compounds like PCBs. Although the Swedish brown bear (*Ursus arctos*) is not as carnivorous as its close relative the polar bear it is still exposed to environmental. The brown bear is a seasonal breeder with a short breeding season in late spring and early summer and has a natural fluctuation in testosterone levels as well as size and morphology of the testes during the year. In this study testes from 51 Swedish brown bears that were shot during the hunting season in 2007 were examined macroscopically. Testes and epididymides from twelve of these bears have been examined microscopically for the presence of pathological changes and seasonal changes in morphology. For comparison testes from nine bears that died in spring was examined macroscopically and microscopically.

Pathological changes could be seen in the testes and/or epididymides in two bears. One was a bilaterally chryptorchid bear with hypoplasia of both testes and segmental aplasia of one epididymis. In another bear segmental aplasia of both epididymides were found. Furthermore three bears had cystic formations on their spermatic cords.

A seasonal variation in testicular morphology was observed. In fall the testes were dominated by connective tissue compared to the breeding season in late spring when active spermatogenesis dominated. A larger testicular size could be seen in bears killed during spring. In the autumn when the bear is sexually inactive there is none or limited spermatogenesis.

## INLEDNING

### Brunbjörnen i Sverige

Brunbjörnen (*Ursus arctos*) är vårt största rovdjur. Den svenska björnstammen beräknades ligga på 2550 (2350-2900) individer 2006 (Swenson et al, 2008) och består av populationer med olika genetiskt ursprung, den norra och södra gruppen, som dock blandar sig genom att hanar utvandrar ur hemområdet (Sandegren & Swenson, 1997). Den norra gruppen finns från norra Jämtland och norrut och är nära besläktad med björnar i Östeuropa, Ryssland, i Alaska och på Kodiakhavön. Den södra gruppen finns i Dalarna, Hälsingland och Härjedalen och är mer släkt med björnar i Pyrenéerna. Stammen var tidigare uppdelad på fyra kärnområden för reproduktion, inom vilka majoriteten av honorna fanns. Efter att de två norra områdena växt samman finns nu istället tre kärnområden (Sahlén et al, 2006).

Under senare delen av 1800-talet bidrog skottpengar på brunbjörn till att arten nästan utrotades från vårt land. Sedan man på 1920-talet bestämde att den svenska björnstammen skulle räddas har stammen växt (Sandegren & Swenson, 1997). Ett riksdagsbeslut 2001 har satt som mål att vi ska ha en miniminivå på 100 föryngringar per år vilket motsvarar en stam på ca 1000 djur (Regeringens proposition 2000/01:57, 2000). Målet är också att områdena mellan de tre kärnområdena fylls ut och att stammen fortsätter sprida sig söderut. Den svenska björnpopulationen anses livskraftig och beskattas årligen (Sandegren & Swenson, 1997). De senaste två åren (2007 och 2008) har 181 respektive 195 björnar skjutits under jakten som pågått från 21 augusti till den 30 september, samt i Norrbotten till den 15 oktober (SVA, 2008).

### Brunbjörnens biologi

Björnen är allätare och födovallet varierar under året (Sandegren & Swenson, 1997). Ungefär hälften av dieten utgörs av bär (framför allt blåbär och kråkbär) som björnen kan äta i stora mängder inför idegången på hösten. Älg och myror utgör vardera 20-25 % av födan medan gräs, örter och kadaver utgör resten av dieten. Björnen kan i vissa områden ta upp till var femte älgkalv (Swenson et al, 2007) men tar få vuxna älgar (Sandegren & Swenson, 1997). Det är framför allt i områden som länge varit utan björn och där en ny björn vandrar in som björnen kan lyckas slå vuxna älgar. Efter en tid lär sig dock älgarna att hålla sig undan björnen och det är i huvudsak tryckande älgkalvar, yngre än fyra veckor, och försvagade djur som björnen tar.

Björnen är solitär utom under parningssäsongen som infaller i maj-juli och den tid då ungarna går med modern (Sandegren & Swenson, 1997) men den hävdar inte revir utan lever i hemområden (Sahlén et al, 2006). Hemområdet är det område björnen vanligen rör sig i. Skillnaden mellan hemområde och revir är att ett revirs gränser försvaras aggressivt medan hemområden i viss mån kan överlappa varandra. Hanarna har i regel större hemområden än honorna och dessa kan överlappa flera honors. Hanarna kan vandra långt för att hitta brunstiga honor och både honor och hanar parar sig med flera partners. För honorna kan detta vara ett sätt att dölja vilken hane som är far till hennes ungar eftersom sexuellt

selektad infanticid förekommer hos brunbjörn. Det innebär att hanar dödar andras ungar än sina egna (vanligen utanför hemområdet) för att honan åter ska komma i brunst (Sandegren & Swenson, 1997). Att detta sker är vanligast i områden där etablerade hanar försvunnit och ersätts med en ny invandrad hane (Sahlén et al, 2006). Hos svenska björnar under två år som återfinns och sänds in till SVA är infanticid den vanligaste dödsorsaken (Mörner et al, 2005).

Björnar har inducerad ovulation och fördröjd implantation. Dräktighetstiden är tre månader (Sandegren & Swenson, 1997). Fostren utvecklas endast om honan lyckats bygga upp en tillräcklig fettreserv. I idet föds 1-4, vanligen 2-3 ungar under januari-februari. Kullsyskon kan ibland ha flera olika fäder (Sahlén et al, 2006). De lämnar idet under april-juni och ungarna följer sedan modern i 1-2 år. Modern överger ungarna innan kommande parningssäsong. Det är endast honor utan ungar som parar sig (Sandegren & Swenson, 1997).

Björnen går vanligen i ide i samband med den första snön (Sahlén et al, 2006) och stannar där i 6-7 månader. Under hibernationen varken äter, dricker, defekerar eller urinerar den (Christensen et al, 2007). Den lever helt och hållet på den fettreserv som byggts upp under hösten och metabolismen går ner till 70-80 % av den normala (Sandegren & Swenson, 1997). Hjärtfrekvensen går ner med 75 % och kroppstemperaturen går ner till 33-34°C jämfört med den normala på 38°C. Björnhonor kan under vintersömnen förlora upp till 40 % av sin kroppsvikt.

## **Testikelmorfologi och fysiologi**

Spermatozoer bildas i testikelns tubuli seminiferi av stamceller, spermatogonier, som delar sig kontinuerligt efter könsmognaden (Sjaastad et al, 2003). Sertoliceller i tubuliepitelet reglerar spermatogenesisen och förser könscellerna med näring. Spermatogonierna delar sig ett flertal gånger och ger upphov till en stor population spermatocyter. Dessa genomgår meiotisk delning. Dottercellerna, spermatiderna innehåller en halv kromosomuppsättning. Spermatiderna sitter fast vid sertolicellernas cellmembran tills de är fullt utvecklade. De mogna, elongerade, spermatozoerna transporteras då genom tubuli seminiferi till bitestikeln där de lagras. Hos de flesta däggdjur tar spermatogenesisen 40-60 dagar och transporten genom bitestikeln 1-2 veckor. Under denna transport mognar de ytterligare och blir rörliga.

Testosteron är det viktigaste hanliga könshormonet. Det produceras av interstitialcellerna (Leydigcellerna) i testikeln. Förutom att påverka produktion av spermatozoer stimulerar testosteron utvecklingen av de hanliga könskaraktärerna, skelett- och muskeltillväxt och påverkar även könsdrift och psykologisk utveckling.

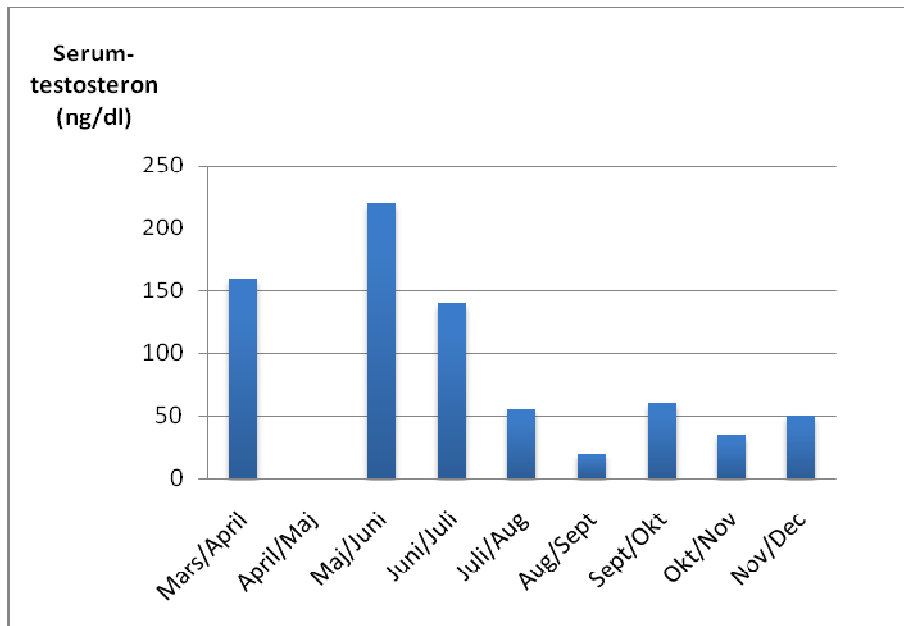
I det tidiga embryot har gonaderna potentialen att utvecklas i både hanlig och honlig riktning. Produceras inget testosteron utvecklas honliga organ. Även genetiska hanar kan i brist på testosteron utvecklas till fenotypiska honor. Många kemiska substanser kan störa utveckling och differentiering av könsorganen (Eartmans et al, 2003).

FSH utsöndras från hypofysens framlob och reglerar könscellernas mognad (Sjaastad et al, 2003) medan LH stimulerar produktion och utsöndring av testosteron i testiklarna. FSH och LH är gonadotrofa och stimulerar därmed gonadernas utveckling och tillväxt. Utsöndringen av både FSH och LH regleras av GnRH som kommer från neuroepiteliala celler i hypothalamus. Utsöndringen av GnRH har en endogen rytm men påverkas också av hormonnivåer i blodet.

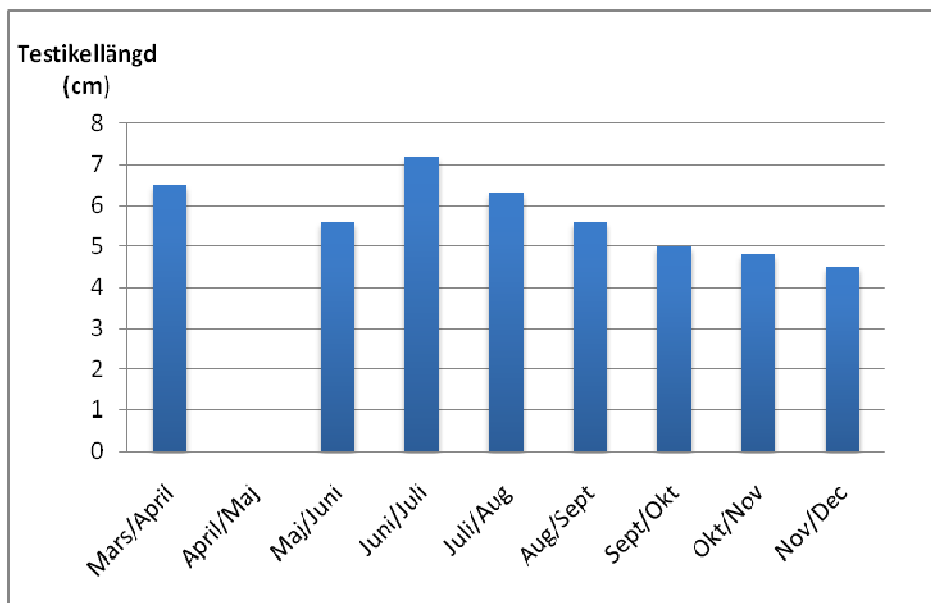
## **Reproduktionsfysiologi och säsongsvariation hos björnhanar**

Hos björnhanar i tempererade områden finns en säsongsbetonad testikelaktivitet. Howell-Skalla et. al (2000) beskrev i en studie på hägnad svartbjörn (*Ursus americanus*) en topp i både spermiogenes och steroidproduktion strax före och under parningsperioden under maj-juni. Från juli till december gick testikeln sedan i regress. Under denna period upphörde spermioproduktionen och produktionen av könshormoner. I januari, medan björnarna fortfarande låg i ide kom spermatogenesisen gradvis igång. Man kunde histologiskt se fler spermatogonier och spermatocyter i januari jämfört med oktober och även mer organiserade tubuli seminiferi. Genom att regelbundet ta blodprover på de hägnade björnarna såg man att testosteron i serum ökade under februari-mars. Testosteron i serum var lägst i september, höll sig på en låg nivå från oktober till februari, ökade kraftigt i mars för att sedan tillfälligt sjunka i april och nå sin högsta nivå under maj-juni. Även testikelstorleken ökade från januari till april och fortsatte vara stora i maj. Dessa variationer i testosteronnivåer och testikelstorlek har även beskrivits i en studie på vilda svartbjörnar (*Figur 1*). Testiklarna krympte i storlek efter parningssäsongen och förblev små under hösten för att sedan tillta i storlek under senvintern (*Figur 2*) (McMillin et al. 1976).

Vilka hormonella signaler som sätter igång testikelaktiviteten under vintersömnen känner man inte till, men man tror att ett säsongsmässigt mönster i utsöndringen av FSH och LH styr dessa processer (Howell-Skalla et al. 2000). Hos de flesta djur med en säsongsmässig reproduktion verkar FSH vara det hormon som sätter igång spermatogenesisen medan LH initierar och bibehåller steroidproduktionen i interstitialcellerna (Leydigcellerna). I Howell-Skallas försök mättes inte FSH hos björnarna men man såg att halterna av GnRH var högre under vår och sommar än höst och vinter. Även prolaktin påverkar testikelaktiviteten hos en del arter, t ex guldhamster (*Mesocricetus auratus*). Där har man sett att en ökande prolaktinnivå under våren när man har en ökande dagslängd vilket leder till en uppreglering av LH-receptorer i testiklarna och genom detta en ökad känslighet för LH. Hos tre av de hägnade svartbjörnarna kunde man se att prolaktinet i serum var som lägst i december då dagslängden är som kortast medan nivåerna gradvis stiger från januari till maj.



Figur 1. Serumtestosteronets variation över året hos svartbjörn. Modifierat efter McMillin et al (1976).



Figur 2. Testikellängdens variation över året hos svartbjörn. Modifierad efter McMillin et al (1976).

Även hos isbjörn har detta mönster i testikelstorlek och hormonvariationer beskrivits (Howell-Skalla et al, 2002). Hos isbjörnar var dock variationerna mindre. I oktober var testikelstorleken 69 % av den i maj jämfört med svartbjörn där testikeln i januari bara är 45 % av den i maj. I Nordamerika och Europa parar sig svart- och brunbjörnar i maj-juni (Howell-Skalla et al, 2000; Sandegren &



Swenson, 1997) medan isbjörnens säsong börjar något tidigare, i mars-maj (Howell-Skalla et al, 2002). I en spansk studie (García-Marcías, 2006) har man förutom ovanstående förändringar visat att kromatinet i spermierna är mer kondenserat under icke-parningssäsong. Detta antas bero på den snabbare bitestikelpassagen under parningssäsongen ger ett mindre kondenserat kromatin.

## Miljögifter

Genom vårt levnadssätt släpper vi ut mängder av kemiska ämnen i miljön. Många ämnen av antropogent ursprung kan påverka fortplantningen negativt och därmed utgöra ett hot mot den enskilda individen, populationer och den biologiska mångfalden. Flertalet av de ämnen som klassas som miljögifter är fettlösliga och kan därför tas upp av olika organismer för att sedan biomagnifieras i näringskedjan (Skaare et al, 2002). Organiska miljögifter som PCBer och bromerade flamskyddsmedel har kopplats till störd fertilitet hos både hanar och honor av isbjörn (Sonne et al, 2006).

Polyklorerade bifenyler (PCBer) är ett samlingsnamn för 209 olika kongener som skiljer sig åt kemiskt genom att de innehåller olika antal kloratomer i olika positioner. De har liknande egenskaper och nyanvändning förbjöds 1978 (Kemikalieinspektionen, 2006). Användningsområdet var bland annat som isolering, fogmassa och smörjmedel. Eftersom PCBer är stabila och bioackumuleras i miljön utgör de dock fortfarande ett stort problem. PCBer är mycket toxiska för vattenlevande organismer och kan ge fortplantningsstörningar hos fisk och vattenlevande däggdjur. I experimentella studier på apor har man sett att PCBer t.ex. orsakar en ökad frekvens genitala missbildningar och försämrad spermie kvalitet (Masuda, 2003). Hos gråsäl (*Halichoerus grypus*) och vikare (*Phoca hispida botnica*) i Östersjön har PCBer associerats med förekomst av stenoser och ocklusioner i livmodern (Naturvårdsverket, 2004).

Diklorodifenyltrikloretan, DDT, används främst för att bekämpa malaria myggor (Timbrell, 2002). DDT är väldigt potent mot insekternas nervsystem men relativt atoxiskt för människor. Det är ett kemiskt stabilt ämne som är lipofilt som därför kan bioackumuleras. DDT metaboliseras i kroppen till DDE vilket är mer persistent och mer toxiskt. Det DDT som finns upplagrat i djurens fettväv verkar inte göra någon skada utan det är den cirkulerande mängden som orsakar problem. Efter att man upptäckt att populationen alligatorer i sjön Apopka i Florida minskat hittades ett samband mellan höga halter av DDT-metaboliten DDE och en minskad penisstorlek och låga testosteronkoncentrationer. DDE har även experimentellt visat sig ha negativa effekter på alligatorers reproduktion.

Flamskyddsmedel används för att försvåra antändning av material och minska spridning av eventuell brand. Sverige importerade 2005 ca 200 ton bromerade flamskyddsmedel till industrin (Kemikalieinspektionen, 2008). Bromerade flamskyddsmedel kan läcka ut i miljön vid användning av produkterna de ingår i. Polybromerade difenyler (PBDE) är en grupp flamskyddsmedel som bryts ned långsamt och därför blir kvar länge i miljön. Ett av dessa, oktabromdifenyleter (OktaBDE) har visat sig vara reproduktionsstörande och bioackumuleras.

Perfluorerade ämnen t ex perfluoroktansulfonat (PFOS) och perfluoroktansyra (PFOA) är stabila ämnen som bryts ner långsamt. De användes förr i impregneringsmedel, rengöringsmedel och som brandsläckningsskum (Kemikalieinspektionen, 2008). Nu för tiden används de bland annat inom flygindustrin och vid förkromning av metall. I ägg från svenska sillgrisslor (*Uria aalge*) har man sett att mängden PFOS ökat sedan man först upptäckte det på 60-

talet. I låga halter förekommer det även i både insjöfisk och fisk längs Sveriges kust. Biomagnifiering har påvisats genom att högre halter har hittats hos olika toppredatorer som rovfåglar, isbjörnar och sälar jämfört med deras bytesdjur (Kemikalieinspektionen, 2004). PFOS kan bildas genom nedbrytning av flera olika ämnen och det förekommer inte naturligt i miljön. Den största tillverkaren av perflourerade substanser, 3M arbetar för en upphörd användning av ämnena. PFOS har visat sig vara mycket stabilt i miljön. Man har inte kunnat påvisa någon som helst nedbrytning i naturen. I försök på råttor har man kunnat visa på en ökad ungdödighet efter exponering både i livmodern och via mjölken.

Ftalater används som mjukgörare i bland annat plast och utsöndras kontinuerligt från plastprodukter (Kemikalieinspektionen, 2007). De är allmänt förekommande i miljön. Mjukgörarna diethylhexylbutylftalat (DEHP) och bensylbutylftalat (BBP) har visat sig vara reproduktionsstörande. BBP är dessutom mycket toxiskt för vattenlevande organismer.

Dibenso-p-dioxiner (PCDD) och polyklorerade dibesofuraner (PCDF) kallas allmänt dioxiner (Kemikalieinspektionen, 2006). De bildas vid samtidig förbränning av organiskt material och material som innehåller klor och kan även bildas i små mängder i miljön. De har inga användningsområden. Det är långlivade ämnen som hittats i såväl däggdjur som fisk och även bröstmjolk hos människa.

### **Miljögifternas inverkan på hälsa och fortplantning**

Både tillverkade och naturligt förekommande ämnen som verkar störande på det endokrina systemet finns allmänt spidda i miljön (Eartmans et al, 2003). Dessa ämnen kan genom sin kemiska sammansättning och struktur härma kroppsegna hormoner. Människor och djur får i sig dessa ämnen via födan, luften och vattnet och även från modern under fosterutvecklingen. Klorerade kolväten, däribland PCBer och DDT är allmänt förekommande i miljön. Genom atmosfären kan de transporteras till avlägsna marina miljöer (Kumar et al, 2001) däribland Arktis (Skaare et al, 2002). Dessa ämnen kan bland annat orsaka störningar i endokrina processer, neurotoxicitet och reproduktionsstörningar hos både människor och andra djur. Hos en mängd ryggradsdjur, däribland människa, har en onormal utveckling av reproduktionsorganen kunnat kopplas till miljögifter (Edwards et al, 2006). Ett samlingsnamn för dessa störningar är Testicular dysgenesis syndrome (TDS) och inkluderar feminisering av den hanliga fenotypen vilket yttrar sig bland annat i kryptorchism, försämrad spermiekvalitet och hypospadios (inkomplett slutning av de urethraveck som bildar penis). TDS verkar ha sitt ursprung under embryogenesen.

Världen över har man de senaste årtiondena sett en försämring av manlig reproduktiv hälsa även hos människor (Toppari et al, 1996, Timbrell, 2002). Förutom en ökning av missbildningar som hypospadios och kryptorchism ses även en minskad spermiekoncentration och en markant ökning av antalet testikelcancerfall. Dessa förändringar antas bero på exponering för östrogena eller andra hormonellt aktiva substanser under fosterutvecklingen. Det finns

experimentella bevis för att xenoöstrogener, dvs. kemiska ämnen med östrogena egenskaper, verkar additivt.

Det finns många exempel på hur xenoöstrogena substanser påverkar vilda djurs fruktsamhet. Hos pumör i Florida (*Felis concolor coryi*) uppgår frekvensen kryptorchida hanar till hela 54 % jämfört med andra amerikanska populationer där frekvensen ligger på 3,9 % (Edwards et al, 2006). Pumorna har visat sig ha förhöjda halter DDT, kvicksilver och PCBer vilket man även hittat i fettväv hos tvättbjörn (*Procyon lotor*) som är ett för puman viktigt byte.

Hos toppredatorer på Svalbard som isbjörn och vittrut (*Larus hyperboreus*) har mycket höga nivåer av PCBer hittats (Skaare et al, 2000). Halterna av PCBer har visat en geografisk variation. Isbjörnar på Svalbard innehåller mer PCBer än isbjörnar från Canada men ännu högre nivåer har hittats i isbjörnar från Franz Josefs land och Kara havet. Skaare et al (2002) visade på ett negativt samband mellan PCBer och testosteronnivåer i plasma. Man såg att isbjörnshannar innehöll högre nivåer av PCBer än honor och samma sak sågs även hos vittrut. Detta beror på att både mjölkfett och äggula är viktiga utsöndringsvägar för lipofila ämnen som inte bryts ner genom metabolismen (Bernhoft et al, 1997, Skaare et al, 2000). Årsungar innehöll högre halter av PCBer än sina mödrar. Ungarna utsätts alltså för en kraftig exponering under tillväxten. Hos hanar hittade man en ackumulation av PCBer med stigande ålder. PCBer har även en negativ effekt på immunförsvaret och Skaare et al (2002) såg signifikant lägre antikroppstitrar med stigande PCB-halter i en jämförelse mellan isbjörnar på Svalbard och isbjörnar i Canada. Isbjörnarna på Svalbard hade också ett sämre lymfocytsvar mot *Escherichia coli* och mykobakterier.

Sonne et al (2006) studerade potentiella negativa effekter av organohalogen substanser (OHC) hos isbjörnar på östra Grönland. Man fann då ett samband mellan organohalogener och en minskning av testikellängd och längd och vikt på baculum (*os penis*) hos såväl subadults som adulta djur. De specifika substanserna skilde sig mellan unga och vuxna djur. Isbjörnar från östra Grönland, Svalbard och västryska Arktis är den mest OHC-förorenade arten i Arktis. Detta till följd av att de äter späck från vikare (*Phoca hispida*) och storsäl (*Erignathus barbatus*). Sälspäcket innehåller höga halter OHC eftersom de är lipofila. I studien jämfördes halterna av OHC med makro- och mikromorfologi av reproduktionsorgan. Inget uppenbart patologiskt hittades vid den makroskopiska undersökningen. Förutom normala säsongsmässiga variationer i testikelstorlek och vikt hittades multifokal fibros, atrofi, hyalinisering av basalmembran och inflammation hos 20 av 55 undersökta björnar. Några säsongsmässiga skillnader i antalet björnar med testikelförändringar orsakade av miljögifter sågs inte i studien. Man noterade även en minskning av testikellängd och baculumstorlek med stigande nivåer av OHC och även en minskad bentäthet i baculum. Diametern av tubuli seminiferi och epididymala tubuli korrelerar positivt till testikelvikten (Sonne et al, 2007). Förminskade testiklar ger en minskad diameter av tubuli seminiferi och epididymala tubuli vilket ger ett lägre antal mogna spermatozoer och en minskad testikelaktivitet (Sonne et al, 2006).

## **Missbildningar i hanliga könsorgan**

Kryptorchism är en av de vanligaste missbildningarna hos våra husdjur och den anses vara genetiskt betingad (McGavin & Zachary, 2007). Hur vanligt kryptorchism är på brunbjörn är inte känt. Hos svartbjörn i Florida har frekvensen kryptorchida i en studie rapporterats uppgå till 5,6 % (Dunbar et al, 1996).

Testikelhypoplasi är en medfödd missbildning som ofta förekommer ihop med kryptorchism (McGavin & Zachary, 2007; Noaks et al 2001). Morfologiskt ses bl.a hypoplastiska tubuli utlinjerade av Sertoliceller och ett fåtal spermatogonier omgivna av rikligt med kollagen samt frånvaro av spermatogenes (McGavin & Zachary, 2007).

Segmentell aplasi av bitestikeln förekommer bland våra husdjur framförallt hos tjur (McGavin & Zachary, 2007) och beror på att ductus mesonephricus inte utvecklats normalt. Hos tjur tros detta vara en ärftlig effekt med autosomal recessiv arvsång.

Cystor vid sädesledaren har setts på utter (*Lutra lutra*) i Sverige (Bisther & Roos, 2006). Uttern är en topp-predator som lever i vattenmiljö och förhöjda halter organiska miljögifter bl.a PCBs, DDT och bromerade flamskyddsmedel har uppmätts i svenska uttrar (Roos 2005) . Hos möss har man experimentellt kunnat framkalla cystor i könsorganen hos hanar genom att injicera deras mödrar med dietylstilbestrol (ett syntetiskt östrogen) under dräktigheten (Newbold et al, 1987). Dessa cystor bestod av rester av ductus paramesonephricus som inte tillbakabildats normalt. Ductus paramesonephricus (Müllerska gången) bildar könsorganen hos honor medan ductus mesonephricus (Wolffska gången) bildar könsorganen hos hanar, hos embryot finns båda organen men det ena tillbakabildas under inverkan av inhibitionsfaktorer.

## **Syfte med studien**

Syftet med den här studien är att undersöka förekomst av patologiska förändringar i könsorganen, med fokus på testiklar och bitestiklar hos hanliga brunbjörnar som kan indikera exponering för miljögifter. Vidare syftar studien att undersöka säsongsmässiga skillnader i testikelmorfologi.

## MATERIAL OCH METODER

### Björnarna

Från skyddsjakten hösten 2007 (21 augusti till 15 oktober) har testiklar från 51 björnar valts ut. Björnarna kom från sex olika län (Västernorrland, Gävleborg, Jämtland, Dalarna, Norrbotten och Västerbotten). Testiklarna har valts ut från björnar där man har en registrerad ålder och vikt, för åldersfördelning se Tabell 1. Vidare har testiklar från nio björnar som kommit in till SVA under våren 2008 (april-maj) undersökts. Dessa kommer från fyra olika län (Norrbotten, Västerbotten, Jämtland och Gävleborgs län). Björnarna har kommit in som fallvilt (trafikdödade eller har skjutits utanför jakten) och har därför genomgått obduktion, medan det från skyddsjaktbjörnarna endast kommit in testiklar, ibland i hinnor och med en liten del av funikeln. Björnarna har vägts och mätts enligt protokoll från Statens veterinärmedicinska anstalt. De som skjutits under skyddsjakten har vägts och mätts i fält medan fallviltsbjörnarna vägts och mätts vid ankomst till SVA. Åldern på björnarna har fastställts på Matson's Laboratory i Montana, USA till vilka man skickat en premolar. Testiklarna från skyddsjakten har frysts in och skickats till SVA.

*Tabell 1. Åldersfördelning bland de undersökta björnarna från skyddsjakten 2007. Hos en björn saknades uppgift om ålder, den har ej räknats med i tabellen.*

Ålder	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	14	19
Antal	1	14	5	8	6	3	2	3	1	2	2	1	1	1

### Makroskopisk undersökning av testiklar och bitestiklar

Testiklarna tinades i kyl i ett dygn före undersökning. Bitestikeln dissekerades loss från testikeln och testiklarnas längd mättes med ett skjutmått och vägdes. Testiklar och bitestiklar undersöktes makroskopiskt efter patologiska förändringar. Björnarna klassificerades i tre ålderskategorier: juvenila (0-1 år), subadult (2-3 år) och adulta (4 år och uppåt). Hos en av höstbjörnarna saknas uppgift om ålder. Åldersbestämningen av vårbjörnarna är ännu inte färdig. Dessa har delats in i två grupper, juvenila och adulta, där både kroppsvikt och morfologiskt utseende i testikeln avgjorde vilken åldersgrupp björnen fick tillhöra. Två björnar med en kroppsvikt på 25 respektive 91 kg och ett juvenilt utseende i sina testiklar räknades som juvenila medan samtliga tyngre björnar räknades till adulta. I den sistnämnda gruppen hade samtliga björnar antingen en aktiv spermatogenes eller en hög kroppsvikt. För att kunna jämföra testikelstorlek hos björnar i olika åldrar och storlekar räknades för varje björn ut ett värde på förhållandet mellan testikelvikt (g) och kroppsvikt (kg) samt mellan testikelvikt (g) och kroppskonturlängd (cm).

## **Histologisk undersökning av testiklar och bitestiklar**

Totalt undersöktes testiklar och bitestiklar från 21 björnar histologiskt. Från skyddsjakten valdes testiklar från 11 björnar ut slumpmässigt. Vidare undersöktes testiklar från en björn som uppvisade makroskopiska förändringar i sina bitestiklar. Testiklar med kraftiga kadaverösa förändringar uteslöts från den histologiska undersökningen. Åldersfördelningen på de histologiskt undersökta björnarna var 0-9 år och kroppsvikterna varierade från 42 till 239 kg. Testiklar och bitestiklar från de 9 björnar som kommit in till SVA som fallvilt under våren 2008 undersöktes också histologiskt.

För histologisk undersökning skars två bitar ut från varje testikel, dessa har tagits mellan centrum på testikeln och vänster respektive höger pol. Från bitestikeln har en skiva tagits från caput, corpus respektive cauda. Dessa fixerades i Bouins lösning i 1-2 dygn, sköljdes i 70 % etanol, snittades i 4-6 µm tjocka snitt som färgades med Hematoxylin och Eosin (HE) och undersöktes mikroskopiskt.

Såväl testiklar från skyddsjakten som testiklar från fallvilt beskrevs morfologiskt med avseende på eventuella patologiska förändringar och förhållande bindväv/tubuliepitel. Detta har varit en subjektiv bedömning. Även förekomst av aktiv spermatogenes och förekomst av spermatozoer i bitestikeln noterades. Som aktiv spermatogenes räknades ett epitel som uppvisade flera stadier av differentiering av könsceller, från spermatogonier till elongerade spermatider.

## **Statistiska beräkningar**

Skillnader mellan vår och höstbjörnar avseende kroppsvikt, kroppslängd, testikelvikt, testikellängd, värdet på förhållandet mellan testikelvikt och kroppsvikt samt förhållandet mellan testikelvikt och kroppslängd har beräknats med Mann-Whitney test. Skillnader har ansetts signifikanta då  $p < 0.05$ .

## RESULTAT

### Vikter och längder

Medelvärdena för testikelvikt (medelvärde av höger och vänster testikel), testikellängd (medelvärde av höger och vänster testikel), kroppsvikt samt kroppslängd framgår av *Tabell 2*.

*Tabell 2. Jämförelse kroppsvikt, kroppslängd, testikelvikt och testikellängd (medelvärde ± standardavvikelse) hos vårbjörnar (april-maj) 2008 respektive höstbjörnar (augusti-oktober) 2007. Standardavvikelser inom parentes.*

	Vårbjörnar		Höstbjörnar		
	Juvenila (n=2)	Adulta (n=5)	Juvenila 0-1 år (n=13)	Subadulta 2-3 år (n=11)	Adulta >4 år (n=19)
Kroppsvikt (kg)	58 (47)	179 (49)	68 (16)	118 (42)	193 (51)
Kroppslängd (cm)	132 (21)	166 (9)	124 (15) <sup>c</sup>	151 (19)	177 (12)
Testikelvikt <sup>a</sup> (g)	5,4 (5,5)	48,6 (13,7)	4,6 (1,4)	18,6 (11,1)	32,0 (11,6)
Testikellängd <sup>b</sup> (mm)	34,3 (11,0)	67,4 (6,9)	37,3 (3,4)	53,2 (10,8)	63,7 (6,4)

<sup>a</sup>)Medelvikt höger och vänster testikel <sup>b</sup>)Medellängd höger och vänster testikel

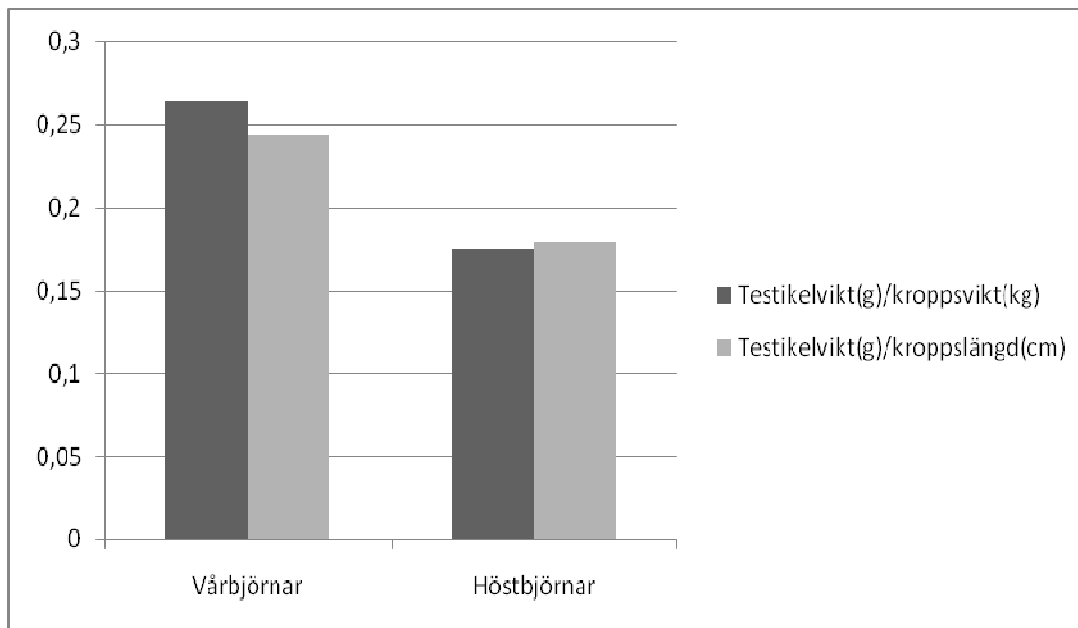
<sup>c</sup>) n=11, uppgifter om kroppslängd saknas för 2 björnar

De björnar från vilka endast en testikel kommit in till SVA har inte tagits med i beräkningen av några medelvärden. Även en björn där åldern var okänd har uteslutits och lika så en vårbjörn där det endast fanns uppgifter om den flådda kroppsvikten.

Medeltestikelvikten hos de adulta björnarna var signifikant högre på våren (48.6g) än på hösten (32.0g). Inga signifikanta skillnader i testikellängd förelåg mellan adulta höst- och vårbjörnar Ingen jämförelse har gjorts mellan de juvenila och subadulta individerna då åldersbestämning inte är gjord på vårbjörnarna och dessa bara utgörs av två individer.

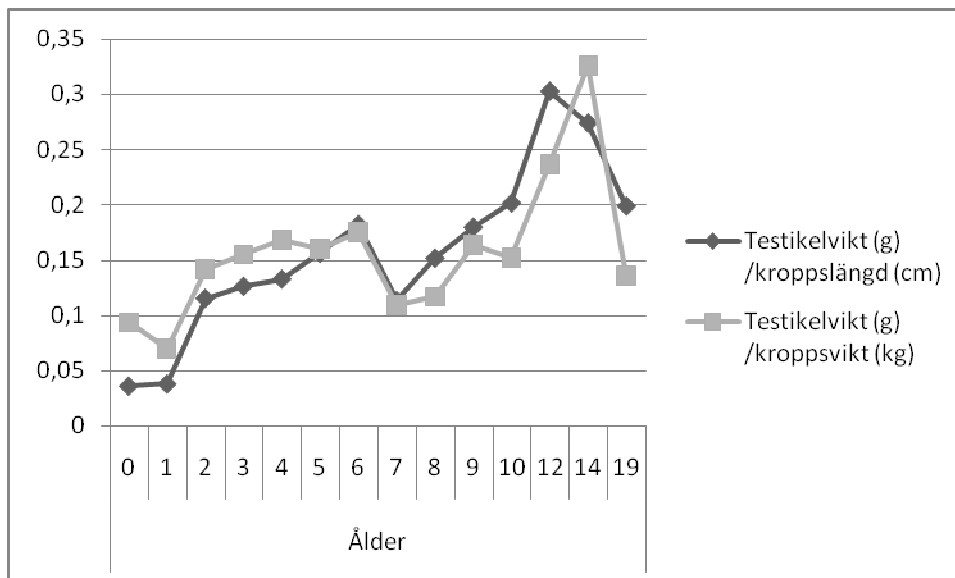
Vid en jämförelse mellan förhållandet testikelvikt (g)/kroppsvikt (kg) och testikelvikt (g)/kroppslängd (cm) hade de adulta vårbjörnarna i båda fallen ett högre värde (*Figur 3*). Värdet på förhållandet mellan testikelvikt och kroppsvikt var signifikant högre på våren än på hösten.





Figur 3. Skillnader i förhållandet mellan testikelvikt/kroppsvikt respektive testikelvikt/kroppslängd. Testikelvikterna är en medelvikt av höger och vänster testikel.

Värdet på förhållandet mellan testikelvikt och kroppsvikt samt förhållandet mellan testikelvikt och kroppslängd jämfördes också för höstbjörnar av olika åldrar (Figur 4). Kurvorna för värdena följer varandra relativt bra i de olika åldersgrupperna. Man kan även se en trend med ökande värden med stigande ålder.



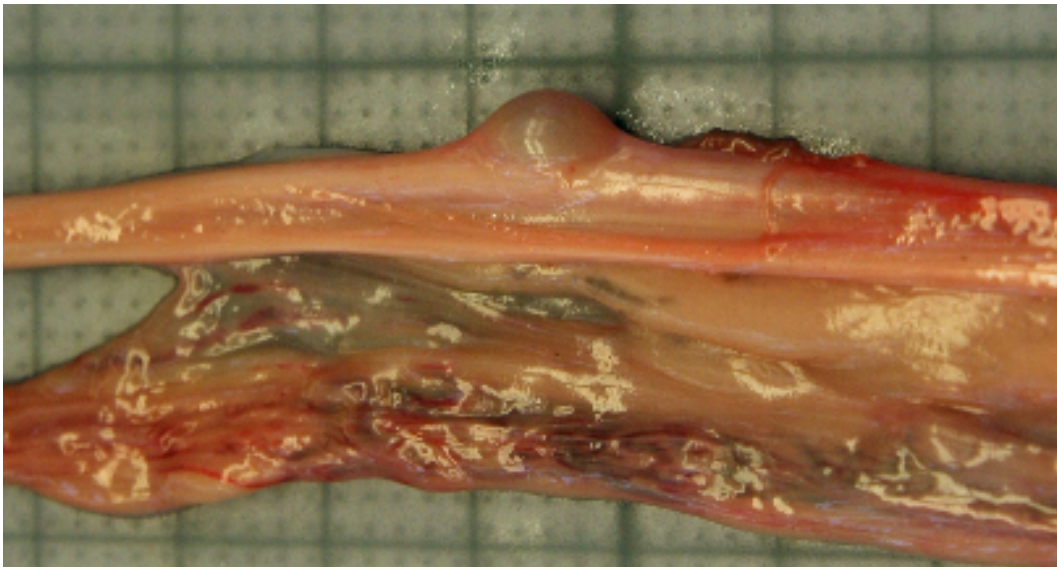
Figur 4 . Jämförelse mellan värdet på förhållandena mellan medeltestikelvikt/ kroppslängd och medeltestikelvikt/ kroppsvikt. Medelvärden för de olika åldersgrupperna.

## Testiklar och bitestiklar

### ***Makroskopiskt utseende***

*Vårbjörnar:* Inga patologiska förändringar sågs i testiklarna från åtta av de nio björnarna från våren 2008. En av de adulta vårbjörnarna hade för sin storlek mycket små testiklar. Kroppsvikten var 149 kg och medeltestikelvikt 2,4 g jämfört med en annan lika tung björn där medeltestikelvikten var 29,1 g. Båda testiklarna hos denna björn låg även i ett mer inguinalt läge än normalt, höger mer än vänster (kryptorkid). Dessutom var höger bitestikel delad i två segment s.k. segmetell aplasi. Hullet hos denna björn bedömdes vid obduktionstillfället som under medelgott.

Hos tre (alla adulta) av de nio vårbjörnarna sågs en cystabildning vid sidan av sädesledaren (*Figur 5*). Hos en av björnarna fanns en cysta vid sidan om både vänster och höger sädesledare medan cystan hos övriga två björnar var enkelsidig. En av dessa två björnar hade två cystor på höger sädesledare. Cystorna som var upp till 1 cm långa satt på varierande avstånd från testikeln (8-21 cm).

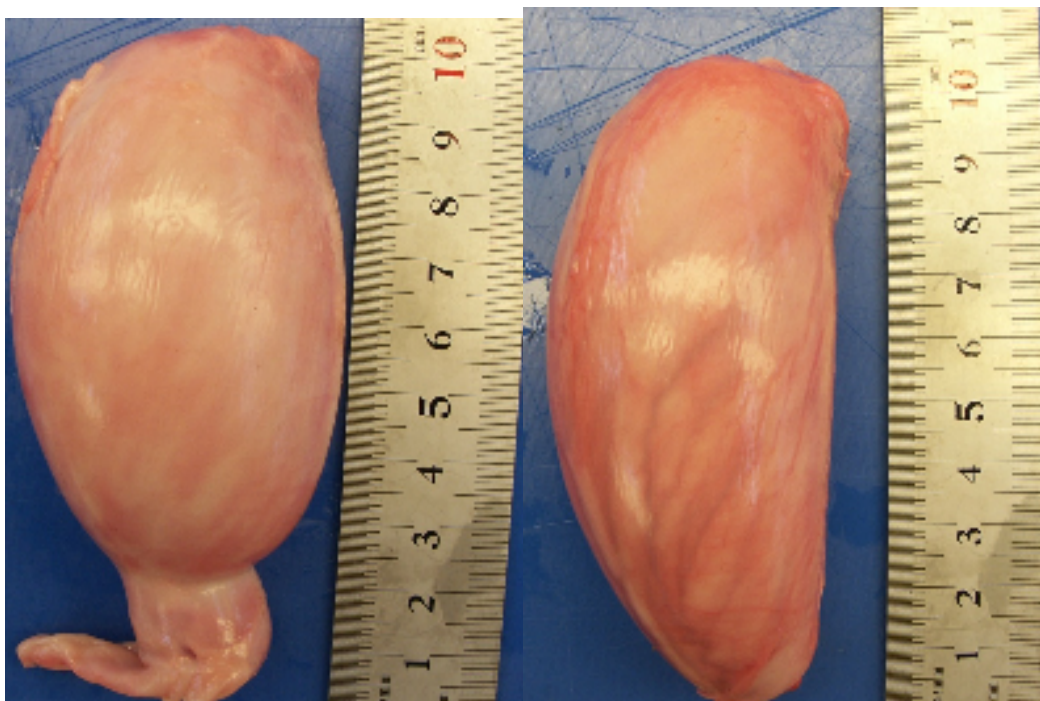


*Figur 5. Cysta vid sidan om sädesledaren hos adult vårbjörn.*

*Höstbjörnar:* Hos 50 av de 51 björnarna från skyddsjakten 2007 sågs inga patologiska förändringar i testiklarna. Hos fem av björnarna hade bara en testikel kommit in till SVA. Totalt undersöktes alltså 97 testiklar från 51 individer.

Hos en av björnarna, en 9-årig björn från Jämtland (V1423/08) uppvisade höger bitestikel en segmenterad form. Segmenteringen bestod av en insnörning i övergången mellan caput och corpus. Även vänster bitestikel uppvisade denna förändring men i en ringare grad. Testikel och bitestikel från denna björn fixerades och snittades för histologisk undersökning.

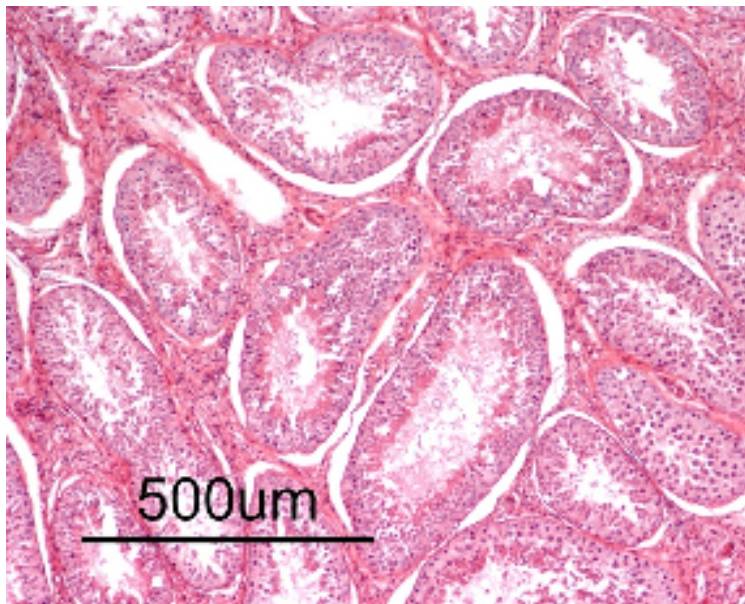
Fem testiklar från fyra olika björnar, både juvenila och adulta, hade en något avvikande form med avsmalning mot den caudala polen och även en mindre insnörning (*Figur 6*). Detta tolkades dock inte som något patologiskt utan som normalvariation då testiklarna från dessa björnar i övrigt såg normala ut och gradskillnader av denna förändring förekom.



*Figur 6. Testikel med avsnörning i den caudala polen till vänster, testikel med normalt utseende till höger.*

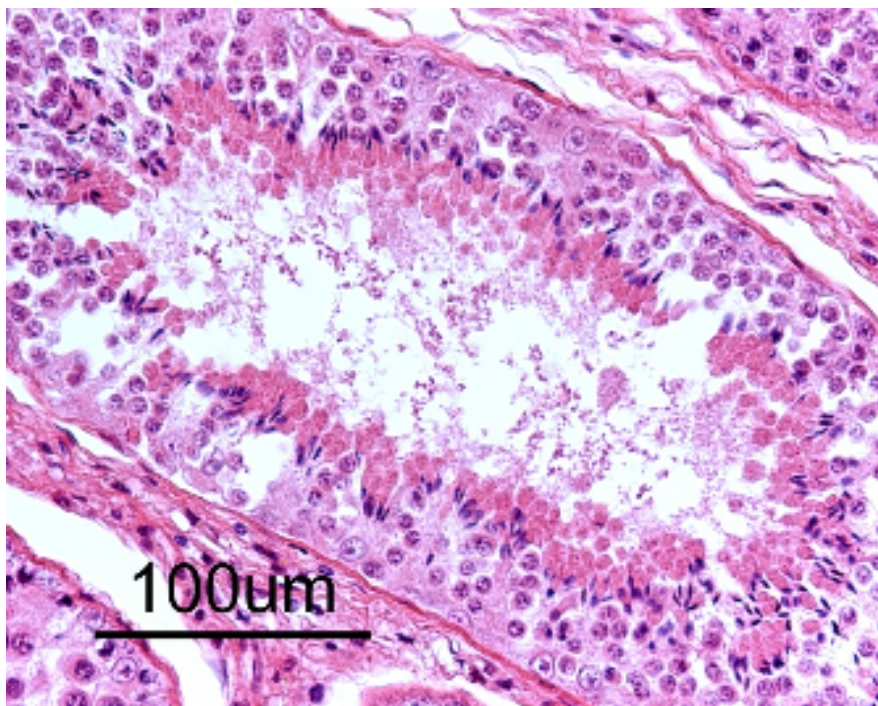
### **Mikroskopiskt utseende**

*Vårbjörnar:* De flesta av vårbjörnarna hade kraftigt autolyserade testiklar och snitten var därför svårbedömda. De flesta av dessa innehöll dock lika mycket tubuli som bindväv, ibland var tubuliandelen större än bindvävsdelen (*Figur 7*).



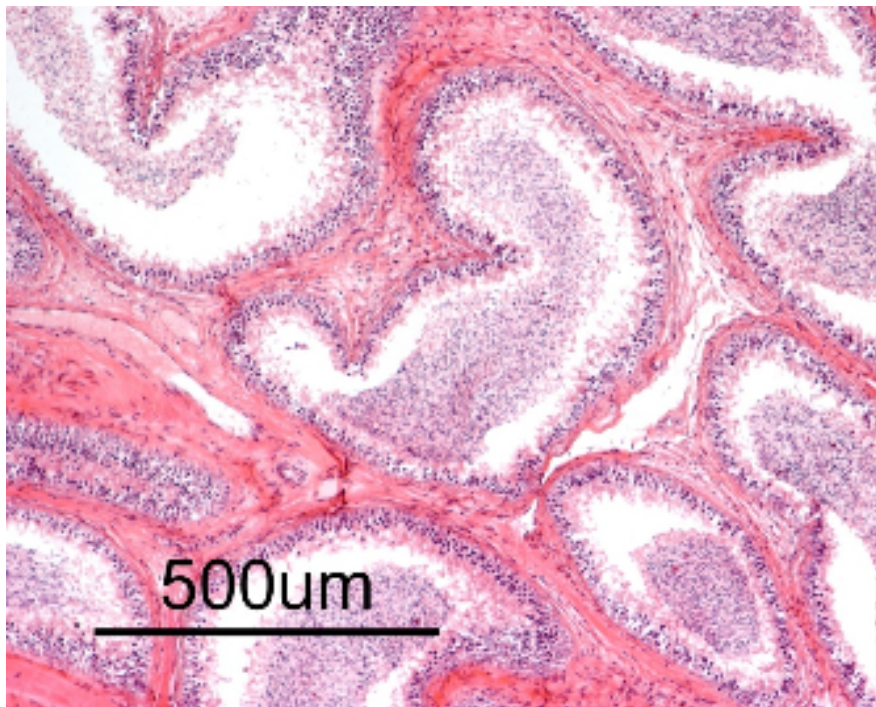
*Figur 7. Testikel från vårbjörn. Endast smala bindvävsstråk syns mellan välorganiserade tubuli seminiferi.*

Samtliga adulta björnar (6 st), utom den med mycket små testiklar uppvisade även en mycket aktiv spermatogenes med differentiering av könsceller i alla stadier (*Figur 8*) och måttligt till rikligt med spermatozoer i bitestikeln (*Figur 9*).



*Figur 8. Aktiv spermatogenes i testikeln från en vårbjörn.*



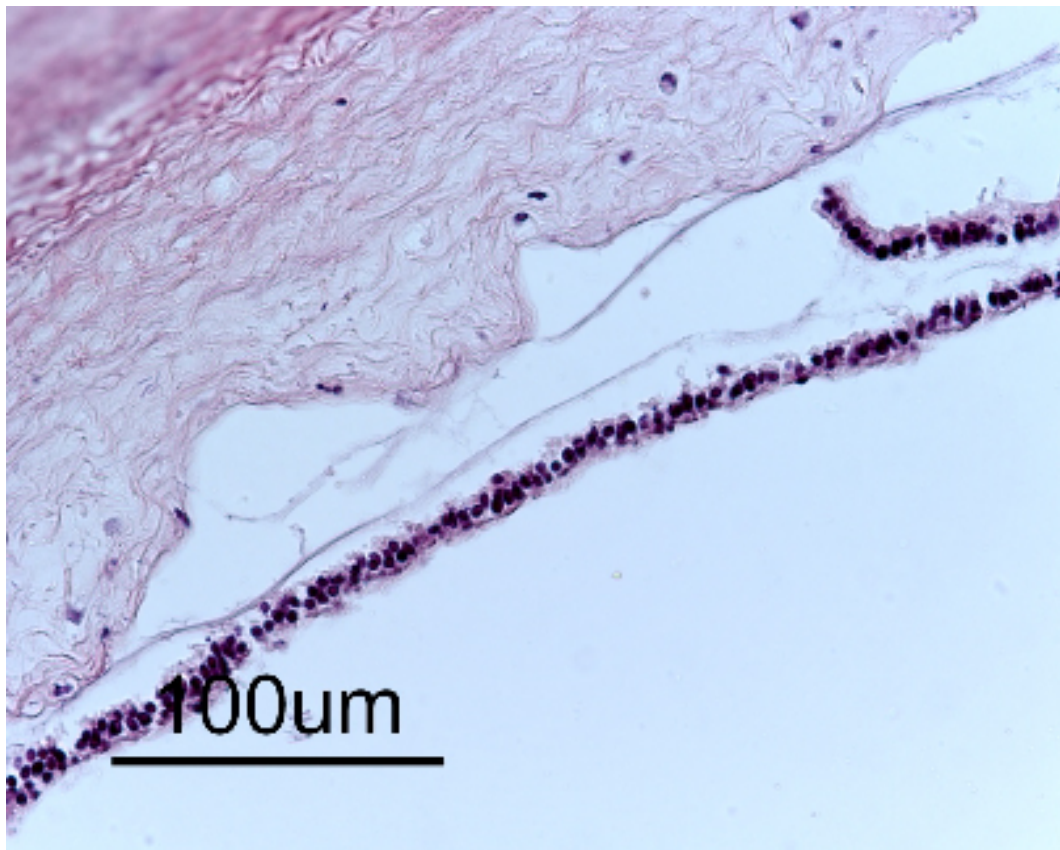


*Figur 9. Rikligt med spermatozoer i bitestikeln hos en vårbjörn.*

Två av vårbjörnarna uppvisade ett mer juvenilt utseende i sina testiklar. Epitelet i tubuli seminiferi var välordnat men tunt och visade inga spår av differentiering och inga spermatozoer hittades i bitestikeln. Dessa björnar vägde 25 kg respektive 91 kg medan de björnar som hade en aktiv spermatogenes, förutom ett undantag på 99 kg, alla vägde 169 kg eller mer. Andelen bindväv i testiklarna med juvenilt utseende var ungefär lika med andelen tubuli.

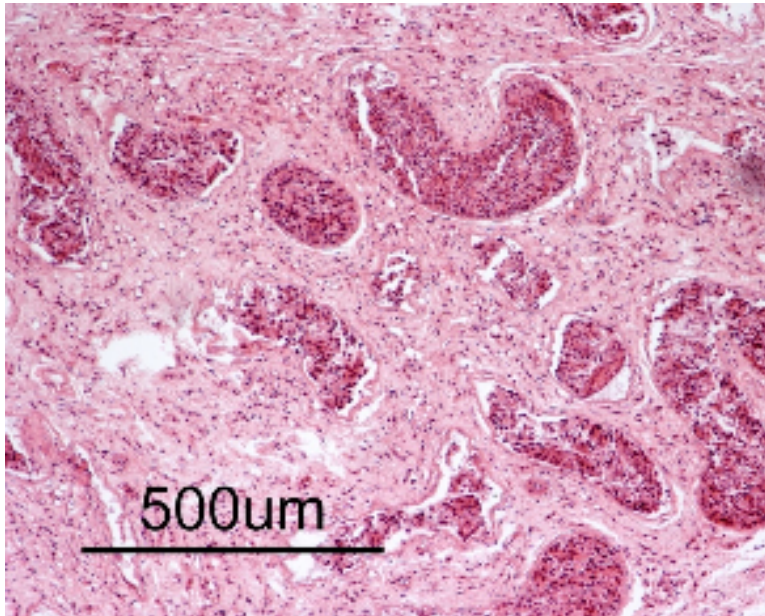
Testiklarna från björnen med mycket små testiklar och där bitestikeln var segmenterad (segmentell aplasi) var kraftigt autolyserade och därmed svårbedömda. En mycket kraftig bindvävsinlagring kunde ändå ses i båda testiklarna och inga tecken på spermiogenes hittades. Inga spermatozoer hittades i bitestiklarna och även dessa bestod till större delen av bindväv.

Cystorna som sågs vid sidan av sädesledaren hos tre av björnarna omgavs av en tjock bindvävskapsel. Cystorna var invändigt klädda med ett enskiktat kubiskt, ofta tillplattat epitel som till större delen släppt från underliggande vävnad och låg löst i lumen (*Figur 10*).



*Figur 10. Mikroskopisk bild av cysta vid sidan om sädesledaren.*

*Höstbjörnar:* Generellt innehöll testiklarna från de tolv björnar som skjutits under hösten mycket bindväv och tubuli seminiferi var hoptryckta. Även bitestikeln innehöll mer bindväv än testiklar från björnar som dött på våren (*Figur 11*).



*Figur 11. Testikel från höstbjörn. Tubuli seminiferi är oorganiserade och andelen bindväv mellan tubuli är stor.*

Sju av de tolv björnarna från skyddsjakten hade en viss spermatogenes med enstaka till måttlig mängd spermatozoer i bitestikeln. Sex av dessa björnar var över fyra år och vägde över 128 kg och kan därför anses vara adulta. Vidare sågs tecken på viss spermatogenes hos en 3-årig björn (V1193/07) som vägde 149 kg. Höger testikel hade bara viss differentiering i tubuli medan vänster hade en aktiv differentiering men inga spermatozoer återfanns i bitestikeln. Fem av björnarna hade ett inaktivt utseende i sina tubuli med ett tunt epitel och ingen differentiering, hos dessa återfanns heller inga spermatozoer i bitestikeln. Andelen bindväv i förhållande till tubuli seminiferi var hos "höstbjörnarna" lika eller upp till fyra gånger större än tubuli. Andelen tubuli översteg aldrig andelen bindväv.

Höstbjörnen med segmenterade bitestiklar (V1423/08) hade normalt epitel i sina bitestikelgångar. Inga spermatozoer kunde ses men båda bitestiklarna innehöll relativt mycket bindväv. Ingen differentiering kunde ses i tubuli seminiferi i någon av testiklarna som även de innehöll en hög andel bindväv. Detta var en nioårig björn på 178 kg.

## DISKUSSION

Av de totalt 60 undersökta björnarna sågs patologiska förändringar i testiklarna endast hos en björn. Denna björn samt ytterligare en individ uppvisade även förändringar i bitestiklarna. Björnen med patologiskt förändrade testiklar var dubbelsidigt kryptorchid och hade mycket små testiklar vilket bedömts som hypoplasi av båda testiklarna. Den histologiska undersökningen av de små testiklarna försvårades av kraftig autolys. Total frånvaro av spermatogenes och kraftig förekomst av bindväv hos denna kryptorchida vårbjörn styrker diagnosen testikelhypoplasi. Hos denna individ noterades även unilateral segmentell aplasi av bitestikeln.

Bilateral segmentell aplasi av bitestikeln observerades hos en adult höstbjörn.

Testikelvikten var signifikant lägre på hösten jämfört med våren och utgjorde ca 66 % av vårvikten. Detta överensstämmer med observationer gjorda på isbjörn där testikelstorleken på hösten har visats utgöra 69 % av storleken på våren (Howell-Skalla et al 2002). Det var inga skillnader i testikellängden på höst jämfört med våren.

Generellt uppvisade höstbjörnar mindre aktiva testiklar än vårbjörnar, och höstbjörnar hade även en större andel bindväv i sina testiklar. Detta stämmer väl överens med de studier som visat att testosteronnivåerna sjunker hos björnhanar under icke-parningssäsong och att testiklarna samtidigt krymper i storlek (Howell-Skalla et al, 2000, Howell-Skalla et al 2002; McMillin et al 1976). Detta tolkades därför som en normal säsongsmässig variation. För att fastställa detta med statistisk signifikans krävs dock studier på ett större djurmateriel och under en större del av året. Sonne et al (2006) såg i sin studie på isbjörn att fibros i testiklarna uppstod till följd av exponering för organohalogen substanser. I framtida liknande studier på svenska brunbjörnar måste hänsyn tas till den säsongsmässiga variationen i förekomst av bindväv i testiklarna.

Björnmaterialet i denna studie varierade med avseende på ålder och vikt. De enskilda ålders- respektive viktgrupperna blir därför små, vissa åldersgrupper innehåller till exempel bara en enda individ. En individ kan således därför gett ett mycket stort utslag inom en viss åldersgrupp och kan då ge ett missvisande resultat. Vill man göra en statistisk signifikant jämförelse mellan hur kroppsvikt och testikelvikt varierar med stigande ålder krävs ett mycket större djurmateriel än vad som använts i denna studie.

Vid en jämförelse mellan förhållandena testikelvikt/kroppsvikt och testikelvikt/kroppskonturlängd kunde inga större skillnader ses när de jämfördes inom gruppen höstbjörnar. Däremot var värdet för förhållandet testikelvikt/kroppsvikt signifikant högre för vårbjörnar än höstbjörnar.

För björnarna som dödade utanför jaken och som dött i april-maj 2008 har ännu ingen åldersbestämning gjorts. Dessa har grupperats som juvenila respektive adulta efter sin kroppsvikt och efter testikelmorfologi. Eftersom kroppsvikten hos björnar kan vara högst varierande även inom samma åldersgrupp är denna



indelning något osäker och resultaten för dessa björnar ska därför tolkas med försiktighet.

Aktiv spermatogenes med spermatozoer i bitestikeln hittades inte hos någon björn som var yngre än fyra år eller vägde under 99 kg. Hos björn V1193/07, en treåring på 149 kg, fanns dock tecken på tidig spermatogenes. Detta skulle kunna tolkas som att kroppsvikt kan spela roll för björnars könsmodning. En enda björn är dock inte tillräckligt för att man ska kunna dra några slutsatser av detta.

Om de björnar från vilka bara en testikel inkommit till SVA var kryptorchida, eller om en testikel försvunnit i hanteringen från det att björnen skjutits till dess den ankom till SVA, är omöjligt att veta. Förslagsvis skulle det för framtida insamlingar vara av stor vikt att det redan vid provtagningstillfället nog noterades om en eller två testiklar fanns i scrotum för att kunna få en korrekt uppfattning om förekomsten av kryptorchism i björnpopulationen.

Sammanfattningsvis kan man notera att det i framtida studier av eventuella förändringar i könsorganen hos björn är viktigt att ta hänsyn till säsongsmässiga morfologiska variationer. Det är också av intresse att fortsätta undersöka eventuella förändringar i könsorganen hos ett större antal björnar för att fastställa hur vanliga förändringarna är i björnpopulationen. Inga miljögiftsanalyser har utförts på detta material vilket hade varit önskvärt för att kunna relatera förändringar i könsorganen med miljögiftsnivåer hos björnarna. En eventuell genetisk orsak till förändringarna måste också beaktas.

## LITTERATURFÖRTECKNING

Bernhoft, A., Wiig, Ø. & Skaare, J. U. (1997). Organochlorines in Polar Bear (*Ursus maritimus*) at Svalbard. *Environmental Pollution*, Vol 95, No 2, 159-175.

Bisther, M. & Roos, A. (2006). Uttern i Sverige. Vårdsnaturfonden WWF Rapport inom projektet levande skogsvatten.

Christensen, J. R., MacDuffee, M., Yunker, M. B. & Ross, P. S. (2007) . Hibernation-Associated Changes in Persistent Organic Pollutant (POP) Levels and Patterns in British Columbia Grizzly Bears (*Ursus arctos horribilis*). *Environ. Sci. Technol.*, 41, 1834-1840.

Dunbar, M. R., Cunningham, M. W., Wooding, J. B. & Roth R. P. (1996). Cryptorchidism and Delayed testicular descent in Florida Black Bear. *Journal of Wildlife Disease*, 32, 661-664.

Eartmans, F., Dhooze, W., Stuyvaert, S. & Comhaire, F. (2003). Endocrine disruptors: effects on male fertility and screening tools for their assessment. *Toxicology in Vitro*, 17, 515-524.

Edwards, T. M., Moore, B. C. & Guillelte, L. J. Jr. (2006). Reproductive dysgenesis in wildlife: a comparative view. *International Journal of Andrology*, 29, 109-121.

García-Marcías, V., Martínez-Pastor, F., Alvarez, M., Borrigan, S., Chamorro, C. A., Soler, A. j., Anel, L. & De Paz, P. (2006). Seasonal Changes in Sperm Chromatin Condensation in Ram (*Ovis aries*), Iberian Red Deer (*Cervus elaphus hispanicus*), and Brown Bear (*Ursus arctos*). *Journal of Andrology*, Vol. 27, No 6, 837-846.

Howell-Skalla, L. A., Bunick, D., Nelson, R. A. & Bahr, J. M. (2000). Testicular Recrudescens in the Male Black Bear (*Ursus americanus*): Changes in Testicular Luteinizing Hormone-, Follicle-Stimulating Hormone-, and Prolactin-Receptor Ribonucleic Acid Abundance Dependency on Prolactin. *Biology of Reproduction* 63, 440-447.

Howell-Skalla, L. A., Cattet, M. R. L., Ramsay, M. A. & Bahr, J. M. (2002). Seasonal changes in testicular size and serum LH, prolactin and testosterone in male polar bears (*Ursus maritimus*). *Reproduction*, 123, 729-733.

Kemikalieinspektionen. Hemsida. [online](2006-03-23) Tillgänglig: <http://www.kemi.se/templates/PRIOPage.aspx?id=4102> [2008-10-14]

Kemikalieinspektionen. Hemsida. [online](2006-03-23) Tillgänglig: [http://www.kemi.se/templates/PRIOPage\\_4092.aspx](http://www.kemi.se/templates/PRIOPage_4092.aspx) [2008-10-14]

Kemikalieinspektionen. Hemsida. [online](2007-01-26) Tillgänglig: [http://www.kemi.se/templates/PRIOPage\\_4090.aspx](http://www.kemi.se/templates/PRIOPage_4090.aspx) [2008-10-14]

Kemikalieinspektionen. Hemsida. [online](2008-05-13) Tillgänglig: [http://www.kemi.se/templates/PRIOPage\\_4090.aspx](http://www.kemi.se/templates/PRIOPage_4090.aspx) [2008-10-14]

Kemikalieinspektionen. Hemsida. [online](2008-10-08) Tillgänglig: [http://www.kemi.se/templates/PRIOPage\\_4100.aspx](http://www.kemi.se/templates/PRIOPage_4100.aspx) [2008-11-14]

Kumar, K. S., Kannan, K., Corsolini, S., Evans, T., Giesy, J. P., Nakanishi, J. & Masunaga, S. (2001). Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and polychlorinated biphenyls in polar bear, penguin and south polar skua. *Environmental Pollution*, 119, 151-161.

McGavin, M. D. & Zachary, J. F. (2007). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4ed. St. Louis: Mosby Elsevier.

Masuda, Y. (2003). Health Effect of Polychlorinated Biphenyls and Related Compounds. *Journal of Health Science*, 49, 333-336.

McMillin, J. M., Seal U.S., Rogers, L. & Erickson, A. W. (1976). Annual Testosterone Rhythm in the Black Bear (*Ursus americanus*). *Biology of Reproduction* 15, 163-167.

Mörner, T., Eriksson, H., Bröjer, C., Nilsson, K., Uhlhorn, H., Ågren, E., Hård af Segerstad, C., Jansson, D. S. & Gavier-Widén, D. (2005). Diseases and mortality in free-ranging brown bear (*Ursus arctos*), Gray wolf (*Canis lupus*) and wolverine (*Gulo gulo*) in Sweden. *Journal of Wildlife Diseases*, 41(2), 298-333.

Naturvårdsverket. (2004). *Patologi hos gråsäl, vikaresäl och knubbsäl*.Handledning för miljöövervakning.

Newbold, R. R., Bullock, B. C. & McLachlan, J. A. (1987). Müllerian Remnants of Male Mice Exposed Prenatally to Diethylstilbestrol. *Teratogenesis, carcinogenesis, and Mutagenesis*, 7, 377-389.

Noaks, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C. W. & Arthur, G. H. (2001). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 8ed. London: Saunders.

Okänd författare. (2004). Kemi Rapport Riskbedömning för PFOS. Stockholm. *Kemikalieinspektionen*. Bilaga till 3/04.

Larsson, K. (2000). Regeringens proposition 2000/01:57. *Sammanhållen rovdjurspolitik*. Stockholm. Miljödepartementet.

Roos, A. (2005) Koncentrationer av klor- och bromorganiska föreningar samt kvicksilver i uttrar från Jämtland 1991-2004. Rapport från Naturhistoriska riksmuseet för Länsstyrelsen i Jämtland.

Sahlén, V., Swenson, J., Brunberg, S., Kindberg, J. (2006). *Björnen i Sverige, en rapport från Skandinaviska Björnprojektet till den svenska Rovdjursutredningen*. Skandinaviska Björnprojektet. Rapport 2006-4

Sandgren, F. & Swenson, J. (1997). *Björnen*. Uppsala: Svenska Jägareförbundet (ISBN 91-88660-19-2)

Sjaastad, Ø. V., Hove, K. & Sand, O. (2003). *Physiology of Domestic Animals*. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.

Skaare, U. J., Bernhoft, A., Derocher, A., Gabrielsen, G. W., Goksøyr, A., Henriksen, E., Larsen, H. J., Lie, E. & Wiig, Ø. (2000). Organochlorides in top predators at Svalbard – occurrence, levels and effects. *Toxicology Letters*, 112-113, 103-109.

Skaare, U. J., Larsen, H. J., Lie, E., Bernhoft, A., Derocher, A. E., Norstrom, R., Ropstad, E., Lunn, N. F. & Wiig Ø. (2002). Ecological assessment of persistent organic pollutants in the arctic. *Toxicology*, 181-182, 193-197.

Sonne, C., Dietz, R., Born, E. W., Riget, F. F., Leifsson, P. S., Bechshøft, T. Ø. & Kirkegaard, M. (2007). Spatial and temporal variation in size of polar bear (*Ursus maritimus*) sexual organs and its pollution and climate change studies. *Science of the Total Environment*, 387, 237-246.

Sonne, C., Leifsson, P. S., Dietz, R., Born, E. W., Lechter, R. J., Hyldstrup, L., Riget, F. F., Kirkegaard, M. & Muir, D. C. G. (2006). Xenoendocrine Pollutants May Reduce Size of Sexual Organs in East Greenland Polarbears (*Ursus maritimus*). *Environmental Science & Technology*, Vol 40, 5668-5674.

Swenson, J. E., Dahle, B., Busk, H., Opseth, O., Johansen, T., Söderberg, A., Wallin, K. & Cederlund, G. (2007). Predation on Moose Calves by European Brown Bears. *Journal of Wildlife Management*, 71(6).

Swenson, J. E., Sahlén, V., Brunberg, S. & Kindberg, J. (2008). *Björnen i Sverige – kunskapsläget idag, Slutrapportering från Skandinaviska Björnprojektet till Naturvårdsverket (Viltforskningskommitten)*. Skandinaviska björnprojektet, Rapport 2008-6.

Statens Veterinärmedicinska Anstalt. Hemsida. [online] (2008-10-30) Tillgänglig: <http://www.sva.se/sv/navigera/Djurhalsa/Vilda-djur/Stora-rovdjur/Bjornjakt/> (2008-11-12)

Timbrell J. (2002). *Introduction to Toxicology*. 3<sup>rd</sup> ed. London: CRC Press.

Toppari, J., Larsen, J. C., Christiansen, P., Giwercman, A., Grandjean, P., Guillelte, L. J. Jr., Jégou, B., Jensen, T. K., Jouannet, P., Keiding, N., Leffers, H., McLachlan, J. A., Meyer, O., Müller, J., Rajpert-De Meyts, E., Scheike, T., Sharpe, R., Sumpter, J. & Skakkebæk, N. E. (1996). Male

Reproductive Health and Environmental Xenoestrogens. *Environmental Health Perspectives*, Vol 104, supplement 4, 741-776.